



FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

GRADO EN MEDICINA

TRABAJO FIN DE GRADO

Trastornos de la unión neuromuscular.

Neuromuscular junction disorders.

Autor: Dña. Nuria Palomera
Sainz

Director/es: Dra. Ana Rosa Palanca
Cuñado

Santander, Junio 2019

ÍNDICE

1. ABREVIATURAS.....	3
2. RESUMEN/ABSTRACT	3
3. OBJETIVOS Y METODOLOGÍA	4
4. INTRODUCCIÓN	4
4.1. ORGANIZACIÓN DEL SISTEMA DE COMUNICACIÓN NEURONAL	4
4.1.1. Estructura de la sinapsis	5
4.2. UNIÓN NEUROMUSCULAR	6
4.2.1. Estructura	6
5. PATOLOGÍA DE LAS UNIONES NEUROMUSCULARES	8
6. MIASTENIA GRAVIS	8
6.1. ANTECEDENTES HISTÓRICOS	8
6.2. EPIDEMIOLOGÍA Y FACTORES DE RIESGO	9
6.3. CLASIFICACIÓN DE MG	10
6.4. PATOGÉNESIS: AUTOANTICUERPOS	10
Miastenia Gravis con anti-AChR positivos	11
Miastenia Gravis con anti-MuSK positivos	11
Miastenia Gravis con anti-Lrp4 positivos.....	12
Otros anticuerpos en MG.....	13
6.5. PAPEL DEL TIMO	13
6.6. CURSO CLÍNICO Y PRONÓSTICO	13
6.7. CRISIS MIASTÉNICA	14
6.8. DIAGNÓSTICO	15
Curso clínico.....	15
Prueba de imagen.	15
Prueba del Tensilon..	15
Pruebas de detección de anticuerpos.....	15
Pruebas neurofisiológicas.	16
6.9. COMORBILIDADES	17
6.10. TRATAMIENTO	18
6.10.1. Tratamiento de base	18
6.10.2. Tratamiento sintomático	18
6.10.3. Inmunoterapias.....	20
6.10.4. Timectomia	24
6.10.5. Terapia individualizada	25
6.11. ABORDAJE DESDE EL PUNTO DE VISTA DEL INVESTIGADOR	26
7. BIBLIOGRAFÍA	29

1. ABREVIATURAS

SNC: sistema nervioso central.
SNP: sistema nervioso periférico.
ACh: acetilcolina.
GABA: ácido gamma-aminobutírico.
NMJ: unión neuromuscular.
VGCC: canales de Ca^{+2} voltaje dependientes.
AChR: receptor de acetilcolina.
AChE: acetilcolinesterasa.
MuSK: tirosin quinasa músculo específica.
LRP4: receptor lipoproteína de baja densidad relacionado con proteína 4.
MG: miastenia gravis.
LEMS: síndrome miasténico Eaton-Lambert.
CI: intervalo de confianza.
HLA: antígeno leucocitario humano.
ColQ: subunidad colágena de la cola de AChE.
EPP: potencial de placa motora.
MFAP: potencial de acción de fibra muscular.
CMAP: potencial de acción muscular compuesto.
RNS: estimulación nerviosa repetitiva.
SFEMG: electromiografía de fibra única.

MVC: máxima contracción voluntaria.
PAE: agotamiento post-activación.
ELA: esclerosis lateral amiotrófica.
AChEI: inhibidor de la acetilcolinesterasa.
SNA: sistema nervioso autónomo.
EAMG: miastenia gravis autoinmune experimental.
TLR: "toll like receptor".
GCs: glucocorticoides.
AZA: azatioprina.
TPMT: tiopurina metiltransferasa.
MMF: micofenolato mofetil.
CsA: ciclosporina A.
MTX: metotrexato.
TCM: tacrólimus.
CPP: ciclofosfamida.
G-CSF: factor estimulante de las colonias de granulocitos.
IVIG: inmunoglobulina intravenosa.
PE: recambio de plasma.
IA: inmunoadsorción.
DCAF: conjugado de doble función antígeno-Fc.
MAC: complejo de ataque a membrana.
VPH: virus del papiloma humano.
VHB: virus de la hepatitis B.

2. RESUMEN/ABSTRACT

Las enfermedades de la unión neuromuscular comprenden una gran variedad de patologías y aquellas de etiología autoinmune y adquiridas son las más frecuentes. Dentro de este grupo se encuentra la miastenia gravis, la más frecuente de todas, caracterizada por la unión de anticuerpos a los receptores de acetilcolina o a moléculas relacionadas con la función de estos, en la membrana postsináptica.

Esta revisión consiste en una investigación exhaustiva sobre la miastenia gravis, comenzando por una introducción a la anatomía de las sinapsis, y en concreto la placa motora. A continuación, se presenta la enfermedad haciendo hincapié en la patogénesis, pruebas necesarias para llegar al diagnóstico y las diferentes terapias. Al final de la revisión se explican algunos de los campos de investigación sobre los que se está trabajando, así como los últimos estudios publicados que permiten una mayor comprensión de la fisiopatología y terapias dirigidas más efectivas.

En la búsqueda bibliográfica se han empleado las palabras clave: “neuromuscular junction disorders”, “synapses”, “myasthenia gravis”, “autoantibodies”, “research”.

Neuromuscular junction disorders comprise a great variety of pathologies and those of autoimmune and acquired etiology are the most frequent. Within this group, we have myasthenia gravis, the most frequent, it is characterized by the binding of antibodies to acetylcholine receptors or other molecules in the postsynaptic membrane.

This review consists of an exhaustive investigation of myasthenia gravis, beginning with an introduction to the anatomy of the synapses, and specifically the motor plate. After that, we focus on the pathogenesis, necessary tests in order to have the diagnosis and different therapies. At the end of the review, some of the research fields on which researchers are working are explained, as well as the latest published studies which allow a better understanding of the pathogenesis and more effective targeted therapies.

In the bibliographic search we have employed the key words: neuromuscular junction disorders, synapses, myasthenia gravis, autoantibodies, research.

3. OBJETIVOS Y METODOLOGÍA

Este trabajo se trata de una revisión bibliográfica sobre artículos y estudios publicados hasta el momento a cerca de los trastornos de la unión neuromuscular, en concreto la miastenia gravis. El objetivo ha sido elaborar un trabajo actualizado sobre toda la información de la que se dispone en estos momentos, tanto métodos diagnósticos como terapias y estudios de investigación que se están llevando a cabo en la actualidad. Para recopilar toda esta información se ha dispuesto de bases de datos como PubMed y UptoDate, una selección de artículos, en un primer momento 29 y tras una primera lectura finalmente 25, citados en el apartado de bibliografía; también se ha dispuesto de libros y fuentes de soporte digital.

4. INTRODUCCIÓN

En esta revisión se trata de reunir el conocimiento actual, a nivel mundial, sobre los trastornos de la unión neuromuscular, prestando especial atención en la miastenia gravis, ya que es un tema en constante estudio por su relevancia y por no estar del todo aclarado el mecanismo que lo origina.

4.1. ORGANIZACIÓN DEL SISTEMA DE COMUNICACIÓN NEURONAL

Las neuronas se organizan en poblaciones específicas con el fin de formar complejas redes o circuitos neuronales. La asociación entre neuronas se hace mediante sinapsis. Estas conexiones especializadas entre células permiten la transferencia de señales químicas o eléctricas entre una célula neuronal presináptica y una célula postsináptica

(neurona o músculo). Una función sináptica adecuada es un requisito esencial para todo proceso neuronal, incluyendo funciones cognitivas superiores. (1,5).

4.1.1. Estructura de la sinapsis

Toda sinapsis consta de 3 partes: vertiente presináptica, vertiente postsináptica y hendidura sináptica.

La *vertiente presináptica* es el botón terminal del axón, en el que se encuentran pequeños sacos membranosos (vesículas presinápticas) donde se localiza el neurotransmisor. La zona de fusión de las vesículas y liberación del neurotransmisor se denomina zona activa, ya que es donde se origina la auténtica comunicación entre las vertientes pre- y postsinápticas,

La *vertiente postsináptica* es la zona de la membrana de la célula receptora asociada al botón terminal.

Las neuronas no están anatómicamente en contacto a nivel de la sinapsis (exceptuando las sinapsis eléctricas), sino que entre ambas vertientes sinápticas hay una hendidura muy estrecha, *hendidura sináptica*, únicamente visible con el microscopio electrónico (1).

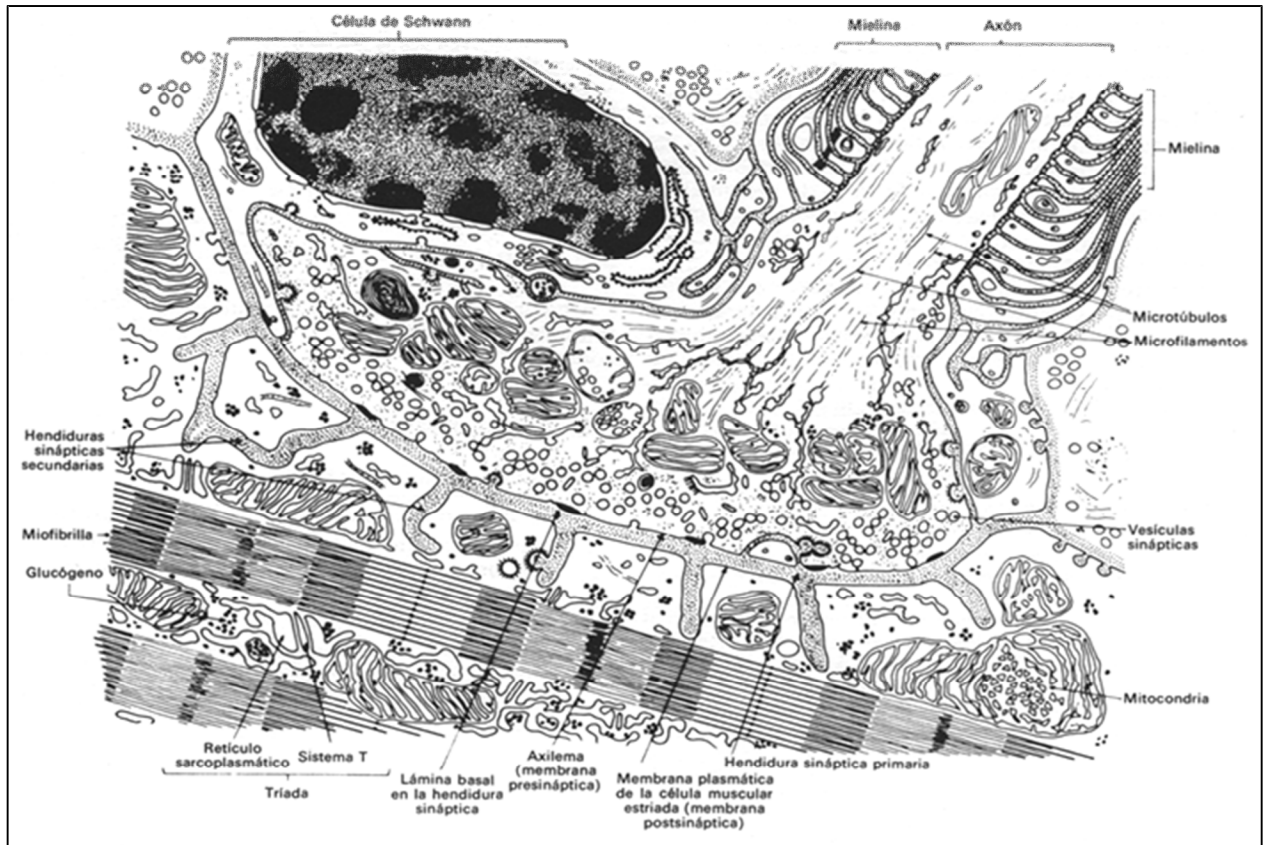


Figura 1. Esquema de placa motora simulando una micrografía de microscopía electrónica. Young B, et al., 2014.

Es posible distinguir dos tipos de sinapsis en base a su mecanismo de transmisión: sinapsis eléctricas, la corriente fluye a través de uniones GAP y la transmisión es más

rápida y sinapsis químicas, la transmisión se lleva a cabo mediante liberación de neurotransmisores y las células están separadas por unos 20-30 nm (6).

Casi todos los neurotransmisores siguen el mismo ciclo: síntesis, empaquetamiento en vesículas, liberación a la hendidura sináptica, fijación a receptores postsinápticos y por último, una rápida eliminación. Los podemos clasificar en 3 grupos:

- Acetilcolina (ACh): es un mediador excitatorio ubicado en los ganglios basales, corteza cerebral, motoneuronas de la médula espinal y uniones neuromusculares.

- Aminoácidos: Glutamato (mediador excitatorio del encéfalo y medula espinal), GABA (mediador inhibitorio de la corteza cerebral, cerebelo y ganglios basales) y glicina (mediador inhibitorio de las motoneuronas de la médula espinal y troco del encéfalo).

- Aminas: noradrenalina, histamina, dopamina y serotonina (3).

4.2. UNIÓN NEUROMUSCULAR

Como ya introdujimos en el concepto de sinapsis, éstas no sólo tienen lugar entre neuronas, también se dan entre neuronas y células musculares, esto es lo que denominamos uniones neuromusculares (NMJ). Éstas permiten la comunicación entre el sistema nervioso y la musculatura esquelética.

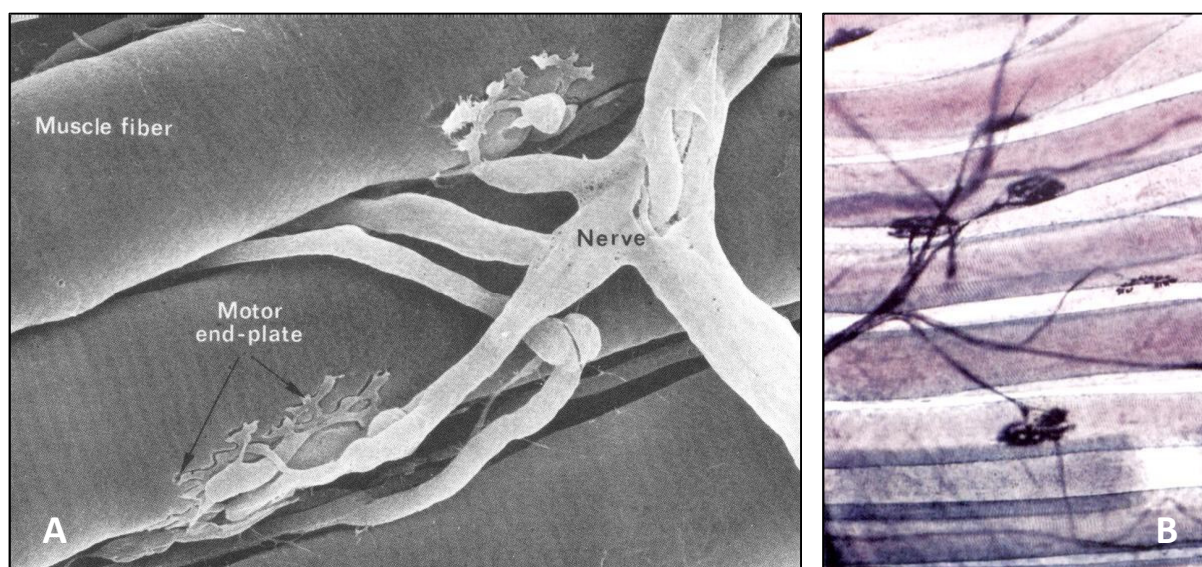


Figura 2. Placa motora en microscopía electrónica de barrido (A) y microscopía óptica (B, método de oro). *Atlas Bloom-Fawcett*.

4.2.1. Estructura

La unión neuromuscular (NMJ) tiene tres componentes básicos: el terminal nervioso motor (membrana presináptica); la hendidura sináptica y la membrana postsináptica muscular. En el terminal nervioso, la liberación de acetilcolina es inducida por un potencial de acción nervioso propagado a lo largo del nervio motor. Esto desencadena la apertura de los canales presinápticos de calcio voltaje dependientes (VGCCs). El calcio entra en el terminal nervioso y produce la exocitosis de las vesículas que contienen acetilcolina (ACh). La acetilcolina difunde a través de la hendidura sináptica y se une a los receptores nicotínicos de acetilcolina (AChR) que están agrupados en la parte superior de los pliegues postsinápticos, por una proteína llamada rapsina, dando

lugar a la apertura de los canales iónicos de los receptores de ACh, que causan una despolarización local de la fibra muscular, el potencial de placa motora.

Si el potencial de placa motora alcanza el umbral, que es lo normal, los canales de sodio voltaje dependientes se abren y se propaga el potencial de acción a lo largo de la fibra muscular, resultando en la contracción muscular.

Mientras tanto la acetilcolina se separa de los AChR y es destruida por la acetilcolinesterasa (AChE), esto permite a los receptores recuperarse y estar preparados para el siguiente potencial de acción. Los VGCCs se cierran y el potencial de membrana es restituido por la apertura de los canales de potasio voltaje dependientes presinápticos.

Existen muchas proteínas importantes en la NMJ. Entre las más relevantes está agrina que es liberada por el terminal nervioso presináptico y se une al LRP4, que se halla asociado a una kinasa músculo-específica (MuSK). La activación del complejo agrina-LRP4-MuSK desencadena una señalización intracelular que lleva a Rapsina a inducir el agrupamiento de los AChR (7).

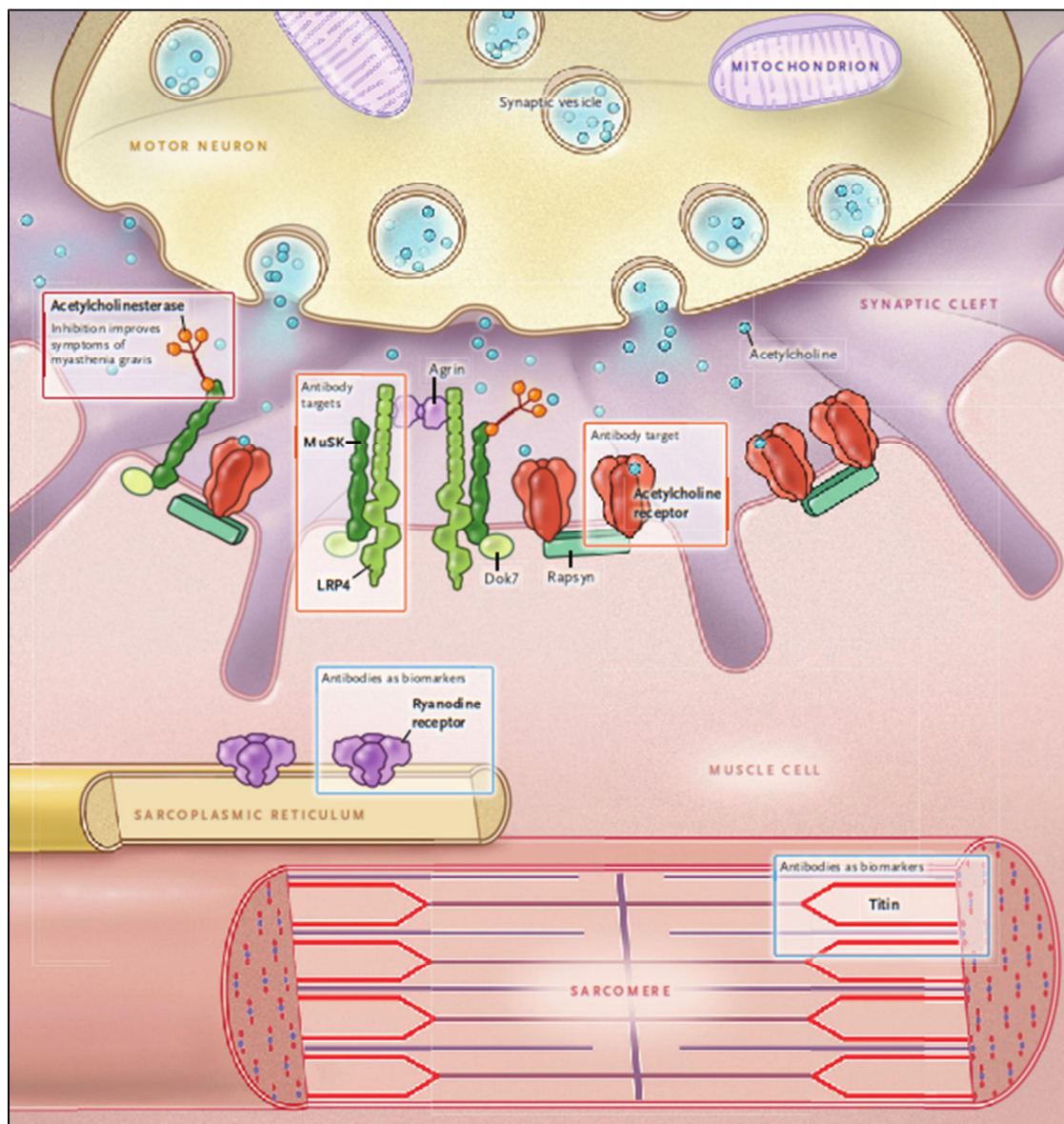


Figura 3. Unión neuromuscular y los elementos clave para la patogénesis de la MG.
Koneczny I, et al., 2016.

5. PATOLOGÍA DE LAS UNIONES NEUROMUSCULARES

Las enfermedades de la unión neuromuscular son debidas a defectos en la transmisión neuromuscular y causadas por una amplia variedad de desórdenes de origen genético, tóxico y autoinmune. Independientemente de la causa, estas enfermedades cursan con debilidad y fatigabilidad (8).

La miastenia gravis y sus subgrupos es la principal enfermedad que afecta a la NMJ, en concreto de afectación postsináptica. El síndrome miasténico Eaton-Lambert (LEMS) y la neuromiotonia son también enfermedades que afectan a la NMJ, pero más raras y de afectación presináptica. Los síndromes miasténicos congénitos e inducidos por toxinas, por ejemplo, el botulismo, también afectan a esta estructura. En la MG el objetivo de los autoanticuerpos es el AChR de la membrana postsináptica, mientras que en el LEMS son los VGCCs localizados en la membrana presináptica. En este trabajo nos centramos en la miastenia gravis, pues de todas las enfermedades que afectan a la placa motora es la de mayor prevalencia en la población (7)(9).

6. MIASTENIA GRAVIS

Es una enfermedad autoinmune relativamente poco común, con una prevalencia de 150 a 250 casos por millón en España y caracterizada por debilidad muscular que fluctúa, empeorando con el ejercicio y mejorando con el reposo. En aproximadamente 2/3 de los pacientes, la afectación de la musculatura ocular se presenta como el síntoma inicial, progresando hasta afectar la musculatura bulbar y de las extremidades, resultando en una miastenia gravis generalizada. En aproximadamente un 10% de los pacientes, los síntomas permanecen limitados a la musculatura ocular, denominándose MG ocular (10).

Aunque la causa de la enfermedad es desconocida, el papel de tres autoanticuerpos circulantes está bien establecido: anti-AChR, anti-MusK y anti-LRP4) (7).

6.1. ANTECEDENTES HISTÓRICOS

El primer caso reportado de MG probablemente sea del jefe de los nativos americanos Opechancanough que murió en 1664. Este caso fue descrito por historiadores: “la excesiva fatiga había arruinado su constitución, su carne se había vuelto macerada, los tendones perdieron su tono y elasticidad, y sus párpados eran tan pesados que no podía ver a menos que fuesen levantados por sus ayudantes...no podía caminar, pero su espíritu asomaba entre las ruinas de su cuerpo desde la camilla en la que era llevado por sus indianos”.

En 1672, el médico inglés Willis describió por primera vez a un paciente con “debilidad fatigable” que afectaba a los músculos oculares y bulbares, descrito por sus compañeros como “falsa parálisis”. En 1877, Wilks (Hospital Guy, Londres) describió la clínica de una chica joven como “parálisis bulbar, fatal, no enfermedad encontrada”.

En 1879, Wilhelm Erb (Alemania) describió 3 casos de miastenia gravis con ptosis bilateral, diplopía, disfagia, paresia facial y debilidad de los músculos del cuello.

En 1893, Samuel Goldflam (polonia) analizó las diferentes presentaciones, severidad y pronóstico de algunos de estos pacientes. Debido a las significativas contribuciones de

Wilhelm Erb y más tarde Samuel Goldflam, la enfermedad fue brevemente conocida como “Enfermedad de Erb” y posteriormente como “síndrome de Erb-Goldflam”. En 1895, Jolly en una reunión de la sociedad de Berlín, describió 2 casos bajo el nombre de “Miastenia gravis pseudo-paralítica”. Las primeras dos palabras de este síndrome gradualmente fueron aceptadas como nombre formal para la enfermedad. Jolly, además demostró el fenómeno, que más tarde se denominaría “Efecto de Mary Walker”, después de que ella misma lo observara y describiera en 1938. Consistía en que “si estimulas un grupo de músculos hasta el agotamiento, la debilidad aparece en los músculos que no son estimulados, una evidencia de un factor circulante que causaba la debilidad neuromuscular”.

En 1934, Mary Walker se dio cuenta de que los síntomas de la MG eran parecidos a los del envenenamiento con curare, tratado con fisostigmina, un inhibidor de la acetilcolinesterasa. En 1937, Blalock alegó mejoría en pacientes miasténicos después de una timectomía. Tras estos descubrimientos, la terapia con inhibidores de la acetilcolinesterasa y la timectomía se convirtieron en el gold estándar para el tratamiento de la MG. Entre 1959 y 1960, Nastuk y Simpson independientemente propusieron que la MG tenía etología autoinmune. En 1973, Patrick y Lindstrom pudieron inducir MG experimental autoinmune en un modelo de conejo. En 1970, prednisona y azatioprina fueron introducidas como modalidades de tratamiento para la MG, seguidas del tratamiento con plasma para las exacerbaciones de las formas severas (10).

6.2. EPIDEMIOLOGÍA Y FACTORES DE RIESGO

La prevalencia estimada para esta enfermedad es de 150 a 250 casos por millón de personas y la incidencia es de 8-10 casos por millón. En el 2017 ha sido publicado un estudio de incidencia en Buenos aires (Argentina) donde la densidad de incidencia ajustada para la población de Argentina fue 38,8 por 1 000 000 personas-año (95% CI 27,09-50,51) (11).

Estas cifras llevan aumentando en los últimos 20 años y puede que sea debido al aumento de la preocupación, aportaciones de la neurofisiología y herramientas para la detección de anticuerpos.

Esta enfermedad que afecta tanto a hombres como a mujeres, tiene una distribución mundial y es similar en la mayoría de las áreas geográficas. Sin embargo, estudios epidemiológicos de China, Japón e India sugieren una alta incidencia en la infancia (7), más del 50% de los pacientes debutan con menos de 15 años, principalmente con manifestaciones puramente oculares, mientras que en Europa y Norte América la aparición en la infancia es poco común, resultando apenas entre un 10-15% de los casos de miastenia gravis (10).

La distribución es bimodal con dos picos de incidencia: la tercera década, sobre todo en mujeres, sugiriendo un posible papel de las hormonas femeninas; y en la sexta década, con ligera predominancia en hombres (7,8).

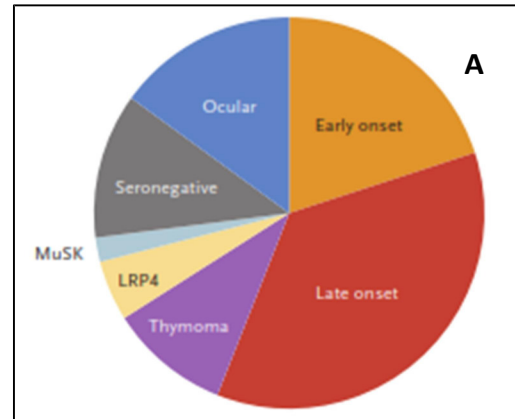
Del mismo modo que ocurre con otras enfermedades autoinmunes, la interacción entre factores genéticos predisponentes y factores de riesgo ambientales podría determinar la aparición de la miastenia gravis. Se ha asociado con diferentes variantes

genéticas, por ejemplo, HLA-DR3 y HLA-B8 se asocian a miastenia con hiperplasia tímica en la población caucásica (8).

6.3. CLASIFICACIÓN DE MG

Existen diferentes formas de esta enfermedad basándose en la presentación clínica, el perfil de autoanticuerpos y la patología tímica:

- MG de inicio temprano (edad de inicio antes de los 50 años) normalmente debuta con debilidad de la musculatura ocular seguida de debilidad generalizada, y afecta más a menudo a mujeres. Se asocia con hiperplasia del timo.
- MG de inicio tardío (edad de inicio por encima de los 50 años) afecta más a menudo a hombres. Se asocia con atrofia tímica.
- MG asociada a timoma.
- MG ocular (manifestaciones puramente oculares).
- MG con anti-MuSK.
- MG con anti-LRP4.
- MG sin anti-AChR ni anti-MuSK.



B

Subgrupos de MG	Anticuerpos	Edad de inicio	Timo
MG de inicio temprano	Receptor de Acetilcolina	Menor de 50 a.	Frecuente: Hiperplasia tímica
MG de inicio tardío	Receptor de Acetilcolina	Mayor de 50 a.	Frecuente: Atrofia tímica
MG con timoma	Receptor de Acetilcolina	Variable	Linfoepitelioma
MG anti MuSK	Kinasa de Músculo específico	Variable	Normal
MG LRP4 positiva	LRP4	Variable	Normal
Seronegativa	No detectado	Variable	Variable
MG ocular	Variable	Variable	Variable

Figura 4. Subgrupos de MG (A). Clasificación de la Miastenia gravis según anticuerpos y edad de inicio (B).

Koneczny I, et al., 2016.

Pacientes con MG asociada a timoma casi siempre tienen anticuerpos anti-AChR positivos en suero y pueden tener adicionalmente anticuerpos paraneoplásicos, como anticuerpos contra los canales de K^+ y Ca^{2+} voltaje dependientes, anti-Hu...(10,12).

6.4. PATOGÉNESIS: AUTOANTICUERPOS

MG es considerada una enfermedad mediada por células T, con síntomas causados por anticuerpos patogénicos anti-AChR, en la mayoría de casos (8). Aproximadamente, un 15% de pacientes con MG generalizada no presenta anti-AChR positivos en suero y se ha visto que un 40% de este grupo sin anti-AChR presenta anticuerpos anti-MuSK y contra otras proteínas postinápticas de NMJ (10).

La existencia de múltiples casos en una misma familia es muy rara, sugiriendo que la MG autoinmune es el resultado de una compleja interacción entre múltiples genes y factores ambientales. Un estudio realizado en gemelos indicó que 11 de 31 pares de gemelos homocigotos eran concordantes para MG, mientras que ninguno de 16 gemelos heterocigotos eran concordantes (7).

Miastenia Gravis con anti-AChR positivos

Aproximadamente un 80% de los pacientes con MG adquirida generalizada y un 50% de los pacientes con MG ocular/bulbar tienen anticuerpos contra AChR circulantes en sangre (12). MG anti-AChR es de lejos la más común de todas, con una incidencia de 5.3 nuevos casos por millón al año (7).

Un 10-15% de pacientes con estos anticuerpos positivos presenta timoma, el cual aparece fundamentalmente entre los 30-60 años.

Se han identificado tres mecanismos principales por los que los autoanticuerpos contra AChR actúan:

- 1) Bloqueo directo de los sitios de unión de la ACh inhibiendo así la apertura de los canales iónicos.
- 2) Acción cruzada sobre los AChRs por parte de los anticuerpos divalentes, que aceleran la endocitosis y degradación de los AChRs.
- 3) Daño mediado por el complemento a la membrana postsináptica muscular mediante la formación de complejos de ataque a membrana (MAC). Luego no solo se destruyen los AChRs, sino también todas las proteínas postsinápticas asociadas a ellos.

Mientras que la unión directa de los anticuerpos a los AChRs, visto en el primer mecanismo, parece jugar un papel secundario; el segundo y tercer mecanismos, donde existe destrucción de los receptores, parecen ser los principales mecanismos patogénicos, llevando a la clínicamente observada debilidad muscular (12).

Los anticuerpos anti-AChR son del isotipo IgG1 e IgG3, a diferencia de los anti-MuSK, que veremos más adelante, que son del isotipo IgG4.

Un estudio retrospectivo mostró que anticuerpos contra la principal región inmunogénica del AChR diferencia entre MG ocular y generalizada, sin embargo, existe falta de estudios prospectivos que establezcan la relación entre los títulos de anti-AChR y la severidad de la enfermedad (8).

Miastenia Gravis con anti-MuSK positivos

Los pacientes que no tienen anticuerpos contra AChR circulantes en sangre son clasificados como pacientes con MG seronegativa, como ya dijimos antes aproximadamente un 15%, pues en su día solo se tenían identificados los AChR como los únicos antígenos. Vincent et al. fueron capaces de identificar una IgG que se unía a un antígeno distinto del receptor de acetilcolina y lograron identificar el antígeno como MuSK. Estos mismos investigadores continuaron con los análisis e identificaron anticuerpos contra MuSK en un 70% de los pacientes con MG seronegativa (12).

MG con anti-MuSK es más común en el sur que en el norte de Europa, esta variación geográfica podría deberse a factores genéticos (7).

Este subgrupo de pacientes con MG con anti-MuSK positivos tiene muchas similitudes clínicas con aquellos pacientes con anti-AChR positivos (MG seropositiva) pero existen algunas diferencias significativas, como que estos pacientes seronegativos sufren una

mayor afectación focal, fundamentalmente en el cuello, hombro, músculos faciales (sobre todo atrofia lingual) (7) y bulbares (12), además de mayor riesgo de crisis miasténicas (lo veremos más adelante); otra de las diferencias es que el timo suele ser normal (7).

Pacientes anti-MuSK positivos responden especialmente bien al tratamiento con plasma, más que a la administración intravenosa de inmunoglobulinas; y no responden a la timectomía. Los inhibidores de la acetilcolinesterasa tienden a ser menos efectivos, e incluso ser contraproducentes, mientras que el Rituximab parece ser más beneficioso que en pacientes MG seropositivos.

MuSK es un receptor tirosin quinasa transmembrana con un dominio N-terminal extracelular, seguido de un pequeño dominio transmembrana y después un dominio C-terminal citoplasmático. Esta molécula es crucial para la interacción del músculo con agrina. MuSK se encarga de fosforilar y unir proteínas de la membrana postsináptica, fundamentalmente rapsina, una proteína intracelular que se une al dominio intracelular del AChR. El dominio extracelular de MuSK interacciona con agrina y el citoplasmático tiene actividad kinasa (12).

Los anticuerpos contra MuSK son predominantemente del isotipo IgG4, y los títulos concuerdan con la actividad de la enfermedad (7). Estos anticuerpos no son capaces de unirse al factor del complemento C1q por lo que no desencadenan la activación del mismo, lo que es una diferencia más con los pacientes MG anti-AChR donde el complemento juega un papel muy importante. Además, los IgG4 sufren una modificación posttraduccional conocida como “Fab-arm Exchange”, haciendo a estos anticuerpos incapaces de llevar a cabo una acción cruzada (12).

Los anticuerpos IgG4 MuSK bloquean la unión, inducida por agrina, de Lrp4 a MuSK y pueden además interferir en la unión de ColQ (subunidad de la AChE) con MuSK (7).

Recientemente se ha demostrado que los anti-MuSK interfieren con la unión de AChE en la NMJ, y la administración de inhibidores de AChE en el modelo de ratón con MG anti-MuSK resultó en la pérdida de AChR; esto podría explicar porque en algunos pacientes anti-MuSK positivos no mejoran en incluso empeoran con la administración de inhibidores de AChE (8).

Miastenia Gravis con anti-Lrp4 positivos

Anticuerpos contra Lrp4 fueron descritos en pacientes con MG doble-seronegativa (negativa para anticuerpos anti-MuSK y anti-AChR). La prevalencia varía aproximadamente entre un 12% y un 50% de los pacientes doble-seronegativos (8).

Lrp4 ha sido identificada como una proteína postsináptica vital para el desarrollo y mantenimiento de la NMJ con una función específica de receptor de agrina necesario para la activación de MuSK.

Anticuerpos anti-Lrp4 son fundamentalmente del isotipo IgG1, que es capaz de activar al complemento y producir daño en la membrana postsináptica. Estos anticuerpos a través del ataque a la proteína Lrp4, impiden su unión a agrina y por tanto se inhibe la agrupación de los AChRs en los pliegues postsinápticos que inducía la agrina (12).

Lrp4 MG fue primeramente descrita en Japón. La mayoría de pacientes presentan la forma ocular o levemente generalizada y aproximadamente un 20% permanece con afectación puramente ocular durante más de 2 años. La frecuencia de crisis miasténica es baja, exceptuando aquellos casos que adicionalmente son positivos para anti-MuSK.

En dos tercios de los pacientes el timo es atrófico y normal para la edad, pero algún caso de hiperplasia tímica se ha registrado. Todavía no hay pruebas comerciales disponibles para la detección de anti-Lrp4, haciendo este subgrupo imposible de diagnosticar en la mayoría de unidades (7).

Un hallazgo de interés, es la presencia anticuerpos anti-Lrp4 en 2 de cada 16 casos de neuromielitis óptica, una enfermedad que se ha visto tiene una estrecha asociación con la miastenia gravis y la presencia de timoma (8).

Otros anticuerpos en MG

Anticuerpos para agrina y ColQ han sido descritos pero muchos de estos pacientes son también positivos para anti-AChR, MuSK o Lrp4. Las pruebas para la detección de estos anticuerpos están solo disponibles en centros de investigación (7).

El porcentaje de pacientes clasificados como seronegativos está disminuyendo, gracias al descubrimiento de nuevos antígenos y la mejora en la sensibilidad de las técnicas para la detección de los antígenos previamente descritos (8).

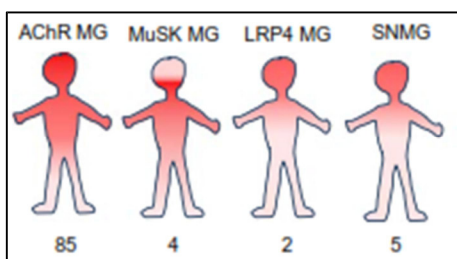


Figura 5. Debilidad muscular y frecuencia de los diferentes subgrupos de MG. La intensidad del color indica la distribución de la debilidad. Los números inferiores indican la frecuencia de las diferentes formas de MG dentro de un grupo de 100 pacientes con MG. *Verschuuren J, et al., 2016.*

6.5. PAPEL DEL TIMO

En individuos sanos el timo empieza a atrofiarse desde el inicio de la adolescencia. En timos hiperplásicos, vistos en formas de MG de inicio precoz, se observan infiltrados linfocíticos y centros germinales, que se cree que juegan un papel importante en el inicio o continuación de la respuesta inmune contra los AChR.

El timoma se ha descrito en un 15% de los pacientes con MG anti-AChR, siendo muy raro encontrar timoma en MG seronegativa (no anti-AChR).

Por esto se recomienda realizar un screening de timoma en todos los pacientes con MG; la prueba de elección es el TAC y en caso de duda un PET (7).

6.6. CURSO CLÍNICO Y PRONÓSTICO

La fatigabilidad y la debilidad son los síntomas guía de esta enfermedad. La musculatura ocular, bulbar, troncal y proximal de las extremidades es la más frecuentemente afecta, aunque la musculatura respiratoria también puede verse involucrada (13).

La debilidad ocular por afectación de los párpados y la musculatura extraocular, se manifiesta como oftalmoplejia con diplopía o ptosis asimétrica (permite diferenciar de otras enfermedades musculares). La debilidad de la musculatura bulbar les causa dificultades para masticar, deglutir, regurgitación nasal de líquidos, disartria o incluso problemas para mantener la boca cerrada. Estos pacientes se quejan más a menudo de los brazos que de las piernas, criterio que nos sirve para distinguirlo de LEMS donde la debilidad afecta predominantemente a las piernas (7).

La MG se caracteriza por fluctuaciones. Los síntomas son menos severos por las mañanas y empeoran a lo largo del día. Las exacerbaciones (crisis miasténicas) y remisiones pueden ocurrir (13).

Desde el punto de vista clínico, esta enfermedad se clasifica en ocular o generalizada. La mayoría de pacientes con MG puramente ocular acabaran desarrollando la forma generalizada. Esta progresión aparece en un 80% de los pacientes en el primer año y en un 90% dentro de los 3 primeros años. Aproximadamente un 20% permanece con la forma puramente ocular (7).



Figura 6. Dos pacientes con MG anti-AchR. Paciente con oftalmoplejia (aducción del ojo derecho) y ptosis del ojo izquierdo (A). Paciente con oftalmoplejia del ojo izquierdo y ptosis del ojo derecho antes del tratamiento (B). El mismo paciente de la imagen B después de terapia inmunosupresora (C). *Gilhus NE, et al., 2015.*

6.7. CRISIS MIASTÉNICA

Es una exacerbación de la debilidad muscular capaz de poner en riesgo la vida del paciente. Se produce una debilidad en los músculos respiratorios causando dificultad para deglutir o respirar, resultando incluso en insuficiencia respiratoria. La incidencia es de aproximadamente un 15-30% de los pacientes con MG. Esta situación puede darse en cualquier momento durante el curso de la enfermedad pero es más común en los 2-3 primeros años tras el diagnóstico aunque se han declarado casos de enfermedad que debutan con crisis miasténica. Se ha demostrado que las infecciones, sobre todo respiratorias, suponen más de un 30% de las crisis. También pueden ser precipitadas por fármacos, pobre control de la enfermedad, embarazo, cirugías o fiebre (14).

Grupo Farmacológico	Fármacos
Antibióticos	Aminoglucosidos Quinolonas Macrólidos
Antiepilépticos	Fenitoína Carbamazepina
Antipsicóticos	Clorpromazina Proclorperazina
Fármacos cardiovasculares	Beta bloqueadores Bloqueadores de canales de calcio Lidocaina y procainamida
Bloqueadores neuromusculares	Succinilcolina
Relajantes musculares	Benzodiacepinas Baclofeno
Otros	Contrastes iodados Sulfato de Magnesio Carbonato de litio Corticoides

Figura 7. Fármacos que pueden exacerbar los síntomas de la Miastenia Gravis. *Castro-Suarez S. et al., 2017.*

6.8. DIAGNÓSTICO

Para establecer el diagnóstico de MG en un paciente hay que tener en cuenta:

Curso clínico. Síntomas que fluctúan y empeoran a lo largo del día. Existen algunos ejercicios que podemos hacer para demostrar clínicamente la fatigabilidad, como pedir al paciente que mantenga la mirada hacia arriba y después de un tiempo veremos la aparición de ptosis y diplopía o debilidad en el deltoides después de ejercicios repetitivos de separación del brazo. Una simple y altamente específica y sensible prueba es el “ice-pack” que consiste en la mejoría de la ptosis después de la colocación de hielo sobre el párpado (7,15).

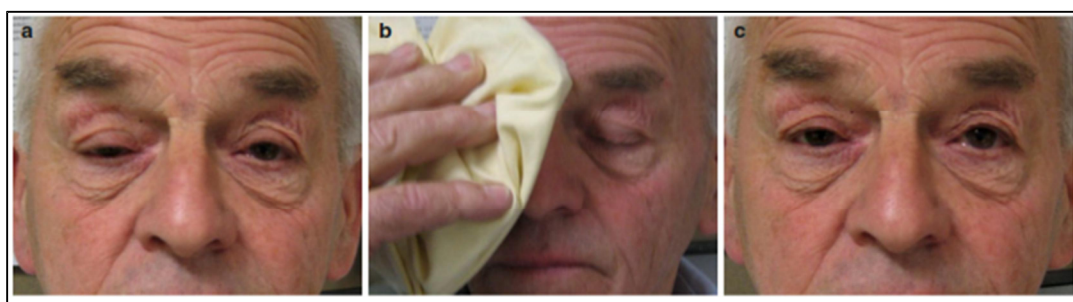


Figura 8. Prueba del ice-pack. Paciente con ptosis derecha (A). Bolsa con hielo aplicada sobre el párpado derecho unos 2 minutos (B). Test positivo con remisión de la ptosis (C). El efecto se debe a que la AChE se inhibe por debajo de los 29°C. *Orrell RW, 2005.*

Prueba de imagen. Imagen del mediastino en busca de timoma (13).

Prueba del Tensilon. Aunque es poco usado en centros que disponen de pruebas neurofisiológicas y de detección de anticuerpos, el test clásico para la MG es la prueba del Tensilon que consiste en la administración intravenosa o intramuscular de un inhibidor de la acetilcolinesterasa de acción corta, normalmente edrofonio o neostigmina. Esto produce una rápida, pero temporal, mejora de la fuerza muscular en pacientes con trastornos de la NMJ, particularmente MG. Pero no distingue entre trastornos pre o post-sinápticos. Fármacos anticolinérgicos, como atropina, deberían estar disponibles para evitar los efectos secundarios de la administración del inhibidor de AChE, como bradicardia, broncoespasmo, espasmos musculares... (7).

Pruebas de detección de anticuerpos. La detección de anticuerpos anti-AChR es el gold standard en el diagnóstico de la MG. Pero hay que tener en cuenta que los títulos de anticuerpos no se correlacionan con la severidad de la enfermedad. El test más común para la detección es el radioinmunoensayo. En un paciente con signos clínicos y síntomas compatibles con MG, un resultado positivo confirma el diagnóstico pero un resultado negativo no excluye el diagnóstico, ya que como hemos visto previamente existen forma seronegativas. La detección de anticuerpos anti-MuSK solo está reservada para aquellos casos seronegativos (13). Este test es muy útil de rutina pero niveles bajos de anticuerpos anti-AChR pueden encontrarse también en pacientes con lupus eritematoso, enfermedades de motoneurona, pacientes con timoma no asociado a MG y ocasionalmente en familiares

de pacientes con MG. Una forma de MG poco común hoy en día, con niveles bajos de anti-AChR, se detectó en pacientes con artritis reumatoide que tomaban D-penicilamina, pero este cuadro era reversible cuando dejaban de tomar este compuesto.

Una prueba de mayor sensibilidad consiste en un ensayo basado en células donde los AChRs son expresados en la superficie de células embrionarias de riñón humanas. Con este procedimiento se detectaron anticuerpos anti-AChR en una parte de pacientes que fueron clasificados como seronegativos, pero esta prueba no ha sido aún comercializada (7).

Pruebas neurofisiológicas. Los potenciales de placa motora (EPP) que despolarizan la membrana muscular por encima del umbral generan un potencial de acción de la fibra muscular (MFAP).

En condiciones normales dentro de una unidad motora, la excitación de las fibras musculares ocurre prácticamente de forma simultánea. Una ligera variación de la normalidad entre fibras musculares adyacentes es lo que se denomina “Jitter” que refleja la variabilidad en la transmisión neuromuscular. Los desórdenes de la NMJ pueden causar un retraso del tiempo necesario para que el EPP alcance el umbral, y esto aumenta el “Jitter” entre fibras vecinas. Si la fibra muscular nunca consigue alcanzar el valor umbral, entonces se produce un bloqueo.

Las pruebas especializadas de electrodiagnóstico para la evaluación de los trastornos de la NMJ son la estimulación nerviosa repetitiva (RNS) y electromiografía de fibra única (SFEMG).

- RNS (estimulación nerviosa repetitiva): esta prueba debe efectuarse en casos de sospecha de trastornos de la NMJ como es la MG. Factores a tener en cuenta antes del inicio de la prueba son: la toma de AChEI por parte del paciente (deben suspenderse 12h antes de la prueba por el riesgo de falsos negativos); inmovilización adecuada de músculos y extremidades a estudio para evitar la movilización del electrodo y temperatura de la piel lo más cerca posible de 35°C, pues si es demasiado baja puede causar: retraso en la liberación de ACh, en la generación del EPP, en la inactivación de los canales de sodio que contribuye a una mayor duración y mayor amplitud del CMAP, mayor duración en la apertura de los VGCC y por lo tanto un aumento en la liberación de ACh.

Los músculos a examen incluyen los músculos intrínsecos de la mano (el abductor del quinto dedo), músculos proximales (trapecio, deltoides, bíceps) y músculos bulbares (nasal, masetero y orbicular del ojo). Habitualmente basta con estimular el abductor del meñique pero si no se encuentran anomalías en la RNS entonces se debe proceder a examinar músculos más proximales. En pacientes con MG donde la debilidad es de predominio axial y de extremidades el trapecio es altamente sensible (89% de sensibilidad), mientras que pacientes con debilidad de predominio bulbar, se recomienda examinar el músculo nasal y ancóneo (100% de sensibilidad). En aquellos con MG puramente ocular esta prueba no es de mucha ayuda y se hace directamente una SFEMG.

La prueba consiste en una estimulación supramáxima sobre el músculo de elección. En reposo, se efectúan 5-10 estímulos a 2-5Hz y en estos pacientes vamos a tener una reducción de la amplitud de más del 10% entre el primer

CMAP al cuarto o quinto. Después de 30-60 segundos de máxima contracción voluntaria (MVC) puede observarse una pequeña corrección de esa disminución de amplitud. La reducción más significativa puede ser observada 2-4 minutos después de MVC, conocida como PAE (postactivation exhaustion).

La sensibilidad y especificidad de la RNS para la detección de MG generalizada son aproximadamente un 79 y 97% respectivamente, y para la detección de las formas oculares un 29 y 94% respectivamente (15).

- SFEMG (electromiografía de fibra única): se lleva a cabo fundamentalmente en el extensor común de los dedos, el músculo nasal, frontal u orbicular de los ojos; y es la prueba más sensible para la MG; un 98% de sensibilidad y 98% de especificidad en la detección de MG generalizada (extensor común de los dedos) y 86%-97% de sensibilidad y 73%-92% de especificidad en la detección de la MG ocular (músculo frontal u orbicular). Sin embargo, esta prueba no es específica para los trastornos de la NMJ, puede ser útil también para el diagnóstico de síndromes neuropáticos y miopáticos. Esta prueba se utiliza cuando la RNS y la detección de anticuerpos resultan equivocadas para el diagnóstico o en el caso de una MG puramente ocular.

La SFEMG puede llevarse a cabo por activación voluntaria o estimulación (niños pequeños, pacientes con alteración del nivel de conciencia...) del músculo en cuestión.

Esta prueba nos detecta la densidad de fibras, los jitters y los bloqueos. La densidad de fibras es el número de MFAPs detectados dentro de una misma unidad motora, un aumento de la densidad de fibras puede verse en los síndrome neuropáticos por reinervación.

Una SFEMG normal en un paciente con debilidad muscular excluye definitivamente que se trate de un trastorno de la unión neuromuscular (15).

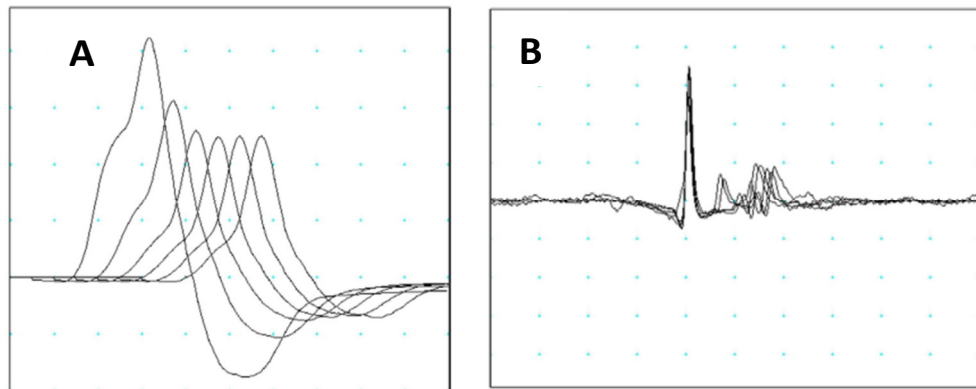


Figura 9. Descenso anormal en la RNS a 3 Hz, recogido en el músculo abductor del quinto dedo de la mano en reposo en una paciente de 26 años con MG(A). Jitter anormal recogido en el extensor común de los dedos en la misma paciente (B).

Liang CL, et al., 2013.

6.9. COMORBILIDADES

Una vez que ya tenemos el diagnóstico de MG, el siguiente paso es la identificación de posibles comorbilidades, entre ellas la presencia de un timoma, de búsqueda obligatoria. (9,16).

Estos pacientes pueden presentar además *enfermedades autoinmunes*, especialmente tiroiditis, común en la MG ocular, y en segundo lugar, artritis reumatoide o lupus eritematoso (17). La incidencia es de aproximadamente un 15% de los pacientes con MG y suelen darse en aquellas formas de inicio precoz (9). También se ha visto una estrecha relación en pacientes con MG anti-AChR positivos y anti-aquaporina 4 con el trastorno del espectro de neuromielitis óptica (NMO). Cuando coexisten ambas enfermedades MG y NMO, la primera suele tener un curso bastante leve (17). Las enfermedades autoinmunes en general suponen un riesgo mayor para la esclerosis lateral amiotrófica (ELA), pero la MG supone un riesgo todavía superior de lo normal. Se observan más casos de ELA en pacientes con MG que en la población general (9).

Otras comorbilidades que pueden tener estos pacientes son *miopatías inflamatorias*, fundamentalmente miocarditis, que se manifiesta con arritmias e insuficiencia cardíaca. La asociación con esta enfermedad fue denominada por Leopold Laquer en 1901 como “Herzmyasthenie” que significa miastenia del corazón (16,17).

La debilidad muscular propia de la MG puede llegar a aumentar el riesgo de *infecciones respiratorias y apnea del sueño*, las alteraciones del sueño son bastante frecuentes en estos pacientes (17).

A parte del timoma, en la mayoría de casos los pacientes con MG no parecen tener mayor riesgo de padecer cáncer. A excepción de los linfomas, cuya frecuencia se ha visto ligeramente aumentada.

Los fármacos empleados para tratar la MG, también pueden aumentar el riesgo de comorbilidades, entre ellos la prednisona, en cuyo caso se precisa de profilaxis para prevenir la osteoporosis, además de controlar en los pacientes: el aumento de peso, la glucemia y la hipertensión (9).

6.10. TRATAMIENTO

El tratamiento de la MG se basa en cuatro opciones diferentes: tratamiento sintomático, tratamiento inmunosupresor, tratamiento inmunomodulador, básico en las crisis miasténicas y timectomía.

Con el tratamiento adecuado estos pacientes pueden llevar una buena calidad de vida y en algunos casos alcanzan la remisión completa (17).

6.10.1. Tratamiento de base

A pacientes con MG se les recomienda una actividad física moderada o baja, tratamiento precoz de las infecciones porque estas pueden desencadenar una crisis miasténica y evitar el sobrepeso. Además se deben evitar en la medida de lo posible algunos de los fármacos comentados previamente que aumentan el riesgo de crisis miasténica (16,18). En estos pacientes, durante las cirugías, los anestesiólogos deben vigilar la función respiratoria por la posible insuficiencia debido a debilidad en diafragma y musculatura intercostal (9).

6.10.2. Tratamiento sintomático

Piridostigmina, introducido hace más de 60 años, es el inhibidor de la AChE (AChEI) preferido para el tratamiento de los síntomas en todos los subgrupos de MG,

exceptuando como hemos dicho los anti-MUSK positivos que responden peor. Estos fármacos no afectan ni curso de la enfermedad ni al proceso inmune subyacente, solo van dirigidos a los síntomas (17). La respuesta de un paciente al tratamiento puede ser de ayuda para diagnosticarlo, sobre todo las formas seronegativas.

La neostigmina y el cloruro de ambenonio son también AChEI pero menos efectivos que la piridostigmina, aunque para anti-MuSK positivos se prefiere el cloruro de ambenonio (9,18).

Se debe potenciar que los pacientes sean quienes se ajusten la dosis hasta encontrar la que mejor se adapta a ellos (7).

La dosis óptima debería ser aquella que aumente la fuerza muscular lo suficiente sin llegar a causar efectos secundarios derivados de la estimulación colinérgica del sistema nervioso autónomo (SNA), como excesiva sudoración, calambres musculares o diarrea. El aumento de las secreciones bronquiales y bucales puede ser un problema en pacientes con disfagia e insuficiencia respiratoria; además en personas mayores suele causar bradicardia.

Se ha establecido que la dosis diaria de piridostigmina no debería superar, salvo excepciones, los 600 mg, pues existe riesgo de intoxicación (crisis colinérgica) cuando se superan estas dosis. Para tratar los efectos secundarios muscarínicos se pueden utilizar glicopirronio bromuro, atropina o loperamida (16,17).

En pacientes con formas leves y no progresivas podemos utilizar la piridostigmina como único tratamiento a largo plazo, mientras que en formas más severas, lo habitual es asociar además inmunoterapia.

Los oligonucleótidos antisentido son una forma innovadora de inhibición de la AChE. El pre-mRNA de la AChE es susceptible de un empalme (splicing) alternativo. La MG está asociada con la expresión de AChE-R, que a diferencia del normal AChE-S, no está enganchado a la membrana post-sináptica, sino que está en la hendidura sináptica. En la MG experimental autoinmune (EAMG), gracias al empleo de oligonucleótidos antisentido se consigue la inhibición de la producción de AChE-R, disminuyendo su cantidad en la hendidura sináptica, y como resultado existe una mejora la fuerza muscular y la tasa de supervivencia en animales con EAMG. En humanos todavía no hay suficiente información que apoye su uso en la clínica, pero se están llevando a cabo estudios sobre el efecto terapéutico de Monarsen (EN101), un oligodesoxinucleótido sintético antisentido de 20 bases dirigido contra el gen humano de la AChE y modificado para poder ser administrado por vía oral. Estudios recientes in-vivo e in-vitro han indicado que EN101 es un receptor del tipo Toll (TLR) 9 ligando específico que puede suprimir funciones proinflamatorias (17).

Otra forma de tratamiento sintomático que no tiene que ver con la inhibición de la AChE, es el aumento de la liberación de ACh desde el terminal presináptico. Dos fármacos son capaces de esto: efedrina y 3,4-diaminopiridina (amifanpidrina). Solo se emplean cuando los AChEI no son efectivos. Muchos pacientes tras la administración de estos fármacos presentan parestesias transitorias acras y periorales (7,18).

6.10.3. Inmunoterapias

Tratamiento inmunosupresor:

Para aquellos pacientes que con tratamiento sintomático no consiguen un resultado satisfactorio deben iniciar el tratamiento inmunosupresor. La primera línea de tratamiento inmunosupresor en la MG consiste en prednisona o combinación de prednisona con azatioprina. Pacientes con MG asociada a timoma, de inicio tardío o anti-MUSK positivos necesitan tratamiento con fármacos inmunosupresores a largo plazo, mientras que aquellos de inicio temprano requieren este tratamiento solo temporalmente, y las formas anti-LRP4, suelen tener un curso leve y no necesitan inmunosupresión. Estudios observacionales sugieren, en la MG ocular, una disminución del riesgo de progresar a formas generalizadas si son tratados con prednisona, aunque hasta ahora no hay nada claro (16,18).

- **Glucocorticoides (GCs) (prednisona/prednisolona)**

Prednisona es un profármaco que se activa en el hígado a prednisolona. Ambos son igual de eficaces y los primeros que se emplean cuando se necesita tratamiento inmunosupresor. En estudios retrospectivos, se observó que los beneficios clínicos aparecían más rápido que con la mayoría de tratamientos, a las 2-6 semanas (7,16). Un 10% de estos pacientes presentan un empeoramiento de la clínica en las primeras 3 semanas tras el inicio del tratamiento glucocorticoide. Las dosis que se pueden emplear son muy variables; algunos médicos comienzan prescribiendo 0,75-1,5 mg/kg/día. Si los síntomas se estabilizan y hay remisión clínica se comienza a disminuir 5mg/día cada 4 semanas hasta conseguir, en ocasiones, una retirada completa de la medicación o la dosis más baja posible con un buen control de los síntomas (16).

Otra opción, aunque con mayor riesgo de exacerbaciones, es la administración intravenosa de metilprednisolona, similar al tratamiento del brote de esclerosis múltiple, con 500-2000 mg/día durante 3-5 días seguido del ajuste para vía oral (18).

Los efectos secundarios del tratamiento con glucocorticoides aparecen cuando se utilizan dosis elevadas, superiores a 7,5 mg/día, y las terapias son a largo plazo, no se debería superar el año en monoterapia. Cuando es imprescindible que sea a largo plazo tenemos que vigilar el riesgo de aumento de peso, desarrollar diabetes mellitus, fenotipo cushingoide, hipertensión, osteoporosis, úlcera gastrointestinal, ansiedad y depresión. Cuando van a ser tratados durante más de 3 meses con dosis de prednisolona superiores de 7,5 mg/día, deben tomar calcio (1000-1500 mg/día) y vitamina D (400-800 IE/día) como prevención de osteoporosis (16,18).

- **Azatioprina (AZA)**

Es un análogo de las purinas y un profármaco que es convertido en el hígado en sus metabolitos activos 6-mercaptopurina y ácido tiopurínico. Estos metabolitos reducen la síntesis de purinas e interfieren en la proliferación de las células B y T. Entre sus funciones destacan inmunosupresoras, antiinflamatorias y citotóxicas. Se utiliza como primera línea de tratamiento inmunosupresor por su eficacia en todos los subgrupos de MG. La dosis empleada habitualmente es de 2-3 mg/kg/día y cuando los síntomas se estabilizan y hay remisión clínica se comienza a disminuir a 1-2,5 mg/kg/día. Los beneficios en la clínica aparecen tardíamente, a los 6-15 meses del inicio del tratamiento, describiéndose el máximo efecto a los 1-2 años.

La combinación ampliamente utilizada es la de AZA con GCSs por dos razones: al combinarlos, los beneficios en la clínica aparecen antes y evitamos los efectos secundarios propios de la monoterapia con GCSs (16–18).

Bajo el tratamiento con AZA se produce una linfopenia reversible que debe mantenerse entre 600-1200/ μ l, por lo que es necesaria una monitorización de parámetros hematológicos(18). En un estudio sin control de 104 pacientes con MG generalizada, 35% tuvieron efectos secundarios al tratamiento: hematológicos (18%), gastrointestinales (13%), infecciones (13%) y elevación de transaminasas (6%) (7,19).

La tiopurina metiltransferasa (TPMT) es el enzima encargado de metabolizar estos fármacos y en personas que tiene baja actividad de este enzima, dosis estándar de AZA pueden causar una grave mielosupresión y/o toxicidad hematopoyética. Por ello, debe conocerse previo al inicio del tratamiento y en pacientes con déficit completo de este enzima (1:300), no es recomendable tratar con AZA.

No existe riesgo teratogénico, por ello autores lo consideran seguro durante el embarazo y la lactancia. Una posible explicación es que el hígado inmaduro del feto no produce el enzima que activa AZA a su metabolito activo, inosinato pirofosforilasa, y por lo tanto el feto se encuentra protegido de los efectos del fármaco.

Si el paciente como tratamiento habitual también toma un inhibidor de la xantina oxidasa como es el alopurinol, deberíamos sustituir el alopurinol por otro fármaco que disminuya el ácido úrico como benzbromarona o probenecide, pues el alopurinol interfiere con el metabolismo de AZA y puede causar mielotoxicidad (18).

- **Micofenolato mofetil (MMF)**

El micofenolato mofetil es un profármaco que se activa en el hígado por la vía de las carboxilesterasas a su metabolito activo, el ácido micofenólico. El metabolito activo bloquea la síntesis de purinas, dando lugar a la supresión de la proliferación de las células B y T. Este fármaco se recomienda como segunda línea de tratamiento inmunosupresor en combinación con prednisona, para las formas de MG leve o moderadas si el tratamiento de primera línea (AZA+GCSs) falla o no se tolera.

Las dosis recomendadas son en torno a 1500-2000 mg/día (16). Los beneficios en la clínica al igual que con AZA son tardíos, a los 6-12 meses de inicio del tratamiento. La combinación de ambas no se recomienda ya que los dos fármacos inhiben la síntesis del DNA, y sus efectos tóxicos podrían sumarse.

Como efectos secundarios, la mayoría de pacientes refieren diarrea, náuseas, anemia hemolítica, infecciones, leucopenia, hepatitis y riesgo elevado de linfoma y otras neoplasias. MMF sí que tiene efectos teratogénicos a diferencia de AZA, por eso el tratamiento debería detenerse al menos 4 meses antes de planear un embarazo y tampoco se recomienda durante la lactancia (18)

- **Ciclosporina A (CsA)**

Posee su capacidad inmunosupresora por la unión a la ciclofilina, proteína citosólica de linfocitos inmunocompetentes, especialmente linfocitos T. Este complejo ciclosporina-ciclofilina inhibe la calcineurina, la cual es responsable de la activación, diferenciación y función de los linfocitos. Por sus efectos secundarios, se utiliza como tratamiento de reserva a menudo junto con GCs, en una dosis de 3-4 mg/kg/día. Los efectos en la clínica se observan de forma más precoz que con AZA o MMF, a las 4-6 semanas después del inicio de tratamiento.

Entre los efectos secundarios pueden aparecer hipertensión, nefrotoxicidad, infecciones oportunistas y temblores. Sobre todo en pacientes ancianos polimedicados, hay que revisar toda su medicación, ya que los niveles en sangre de CsA pueden incrementarse por la administración concomitante de macrólidos, inhibidores de los canales de calcio y dosis elevadas de GCs; y al contrario, los niveles pueden verse disminuidos, en tratamientos con fenitoína, rifampicina y metamizol (17,18).

- **Metotrexato (MTX)**

Es un análogo estructural del ácido fólico, con poca historia como tratamiento de la MG, que reduce la actividad de la hidrofolato reductasa y en consecuencia altera el DNA, RNA y síntesis proteica, además de la proliferación linfocitaria. Algunas guías recomiendan la administración vía oral, im o iv de entre 7,5 mg-25 mg una vez por semana, y de 5-10 mg de ácido fólico al día siguiente de la administración del metotrexato para prevenir efectos secundarios. La mejoría clínica no se observa hasta 10 meses después de la introducción del tratamiento. Potenciales efectos secundarios pueden ser, trombocitopenia, leucopenia, infecciones, hepatotoxicidad, anemia, síntomas gastrointestinales, osteoporosis. MTX, al igual que el micofenolato mofetil es teratogénico, por lo que está contraindicado durante el embarazo y lactancia (17,18).

- **Tacrólimus (TCM)**

Al igual que la ciclosporina A, es un inhibidor de la calcineurina y por tanto va a tener efectos secundarios similares a ésta (18). Además tiene un efecto adicional en el receptor rianodina que media la salida de calcio del retículo sarcoplásmico, que teóricamente podría suponer una mejora en la fuerza muscular de estos pacientes (16).

- **Ciclofosfamida (CPP)**

Es un agente alquilante que suprime la actividad de las células B y la síntesis de anticuerpos. Drachman y otros autores trataron con este fármaco a 3 pacientes con MG refractarios al resto de terapias y tuvieron una mejora significativa (20). Por ello, se le considera un fármaco de reserva para aquellos casos que no responden a la terapia estándar. Su uso está limitado por efectos secundarios, sobre todo, toxicidad gonadal, vesical, mielotoxicidad y pérdida del cabello (7,17,18).

Puede administrarse bien como 500 mg/m² de superficie corporal cada 4 semanas junto con Mesna (prevención de toxicidad urotelial) o 50 mg/kg/día en 4 días consecutivos seguido de G-CSF (granulocyte-colony stimulating factor) o de trasplante alogénico o autólogo de células madre (18).

- **Bortezomib**

Es un inhibidor del proteasoma aprobado para el tratamiento del mieloma múltiple. Estudios recientes indican que podría ser de utilidad en el tratamiento de la MG, pero sigue todavía en estudio (7).

- **Rituximab**

Es un anticuerpo monoclonal que se une al antígeno CD20 en la superficie de los linfocitos pre-B y B maduros, tanto normales como malignos. Este fármaco fue originalmente diseñado para el tratamiento del linfoma de células B, pero también es

una opción terapéutica en enfermedades autoinmunes, por ello, se emplea en formas moderadas y severas de MG, que son refractarias a la primera línea de tratamiento (7). Suele administrarse de forma combinada con prednisona y/o AZA.

Los que responden mejor a este tratamiento son los anti-MUSK positivos y esto se probó, entre otros, con un ensayo clínico donde se trató a 6 pacientes anti-MuSK positivos y a 11 anti-AChR positivos con rituximab, y tras 31 meses de seguimiento 10 de los pacientes anti-AChR mejoraron pero 6 necesitaron reinfusiones, mientras que los anti-MuSK todos remitieron sin la necesidad de reinfusiones (21).

Una de las posibles explicaciones es que los anticuerpos Ig4 anti-MuSK son producidos por células plasmáticas de vida media corta CD20+, mientras que los anticuerpos Ig1 e Ig3 anti-AChR son producidos por células plasmáticas de vida media larga CD20-.

Entre los efectos secundarios a destacar están las infecciones y la precipitación de enfermedades autoinmunes (18).

- **Eculizumab y belimumab**

Eculizumab es otro anticuerpo monoclonal que bloquea la activación del complemento uniéndose al factor C5 y belimumab es otro anticuerpo monoclonal dirigido contra el factor activador de los linfocitos B, empleado también en el tratamiento de lupus eritematoso sistémico. Todavía no hay suficientes ensayos clínicos que aporten una evidencia definitiva de su eficacia y seguridad (17,18).

Tratamiento inmunomodulador

Este tipo de tratamiento se emplea a menudo en situaciones de crisis miasténica o MG refractaria al tratamiento estándar con rápido deterioro de la clínica que obliga ingreso en unidad de cuidados intensivos o incluso en pacientes estables en los que se prevé deterioro o exacerbación como consecuencia de una cirugía (18).

En caso de una crisis miasténica debemos monitorizar las constantes vitales, tratar posibles infecciones, soporte respiratorio y terapia inmunomoduladora con inmunoglobulinas intravenosas o recambio de plasma. Las dos opciones son igual de eficaces y si fuese necesario pueden administrarse sucesivamente. En pacientes que no responden a ninguna de las dos alternativas, se pueden administrar corticoides a altas dosis (16).

- **Inmunoglobulinas intravenosas (IVIG)**

El efecto inmunomodulador se consigue a través de un mecanismo complejo, pues parece que las Igs inhiben la activación del complemento, interfieren con la formación del complejo de ataque a membrana (MAC), modulan la respuesta patógena de los autoanticuerpos y los receptores Fc (7,17,18).

La respuesta terapéutica normalmente aparece entre 2-5 días y su efecto dura unos 2-3 meses por la síntesis de novo de autoanticuerpos. El beneficio terapéutico es equivalente al recambio de plasma (PE) y a la inmunoadsorción (IA) pero se suelen preferir las IVIG porque el PE y la IA requieren de un catéter venoso central (18).

En una revisión Cochrane se concluyó que existe evidencia de su eficacia en el tratamiento de las exacerbaciones de la enfermedad, pero insuficiente evidencia a la hora de mostrar mejoría en pacientes con MG crónica (7,22).

Las dosis terapéuticas son 0,4 mg/kg/día durante 5 días consecutivos o 1 g/kg/día durante 2 días consecutivos. La mayoría de pacientes presentan efectos secundarios

inespecíficos como sudoración, fiebre...solo un 1-2% presenta reacciones adversas severas (18).

- **PE y IA**

Cuando hacemos un recambio de plasma (PE), el plasma es separado de los componentes corpusculares de la sangre y sustituido por una solución al 5% de albumina y cristaloides. La eficacia del tratamiento reside en la eliminación de los autoanticuerpos y otros factores humorales patogénicos como complejos inmunes, moléculas de adhesión, toxinas y citoquinas, pero es una medida de corta duración ya que en 6 semanas vuelven a aparecer en el plasma los autoanticuerpos (7,17). Suelen necesitarse de 6 a 8 ciclos en días alternativos para alcanzar la estabilización y remisión clínica.

La inmunoadsorción (IA) a diferencia del PE, elimina específicamente los anticuerpos IgG y además otras inmunoglobulinas (IgM, IgA e IgE) por lo que con este mecanismo se evita la eliminación de algunos componentes del plasma como albúmina y factores de la coagulación. Un estudio controlado, aleatorio con 19 pacientes con crisis miasténicas mostró una eficacia similar entre PE e IA, sin embargo, en términos de efectos secundarios el grupo tratado con IA tenía menos, por ello en muchas guías proponen la IA como una alternativa más segura que el PE (18).

6.10.4. Thymectomy

Fundamentalmente la timectomía (transternal o asistida por robot) la vamos a practicar en casos de MG que van asociados a timoma pero en ocasiones se hace una timectomía sin timoma. En el caso de MG asociada a timoma se recomienda la timectomía pero en ancianos y pacientes con importantes comorbilidades puede bastar únicamente con la radioterapia.

Aquellos pacientes anti-AChR positivos sin timoma, especialmente las formas generalizadas y de inicio precoz, responden bien a la timectomía, si esta se lleva a cabo en los 2 primeros años tras el diagnóstico. Recientemente, se ha llevado a cabo un ensayo clínico en fase III con 126 pacientes, prospectivo y multicéntrico, comparando timectomía con no timectomía en el prototipo de paciente dicho previamente. En este estudio se constató que la timectomía mejoraba la clínica en un tiempo medio inferior al que se tardaría solo con tratamiento con prednisona (18,23).

No se recomienda la timectomía en mayores de 60-65 años, anti-Musk o anti-LRP4 positivos, ni con MG ocular, pues no existe suficiente evidencia de que la timectomía favorezca la remisión o evite la generalización de la enfermedad (9).

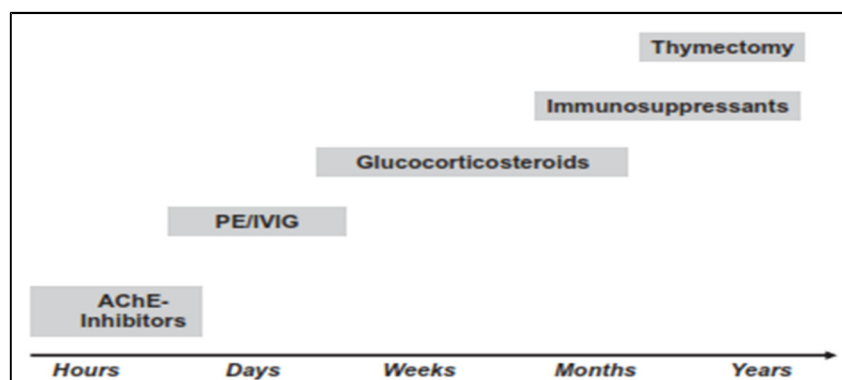


Figura 10. Periodo de eficacia terapéutica de diferentes tratamientos para la MG.

Lee JJ, et al., 2017.

6.10.5. Terapia individualizada

La terapia individualizada en la MG está basada en la severidad de la enfermedad, la edad de inicio, las manifestaciones clínicas y el tipo de anticuerpos presentes. Por ejemplo, las personas mayores están más dispuestas a tolerar cierto grado de debilidad en las extremidades, más que efectos secundarios propios del tratamiento con corticoides; mientras que pacientes jóvenes toleran peor la debilidad y prefieren permanecer activos (7,18).

Si por la clínica sospechamos que pueda tratarse de una MG, en todos los pacientes se debe empezar el tratamiento con AChEI, como por ejemplo, piridostigmina. En caso de que la respuesta al tratamiento sea insuficiente, se pueden añadir GCs, y en pacientes con afectación más severa PE o IVIG. Si conseguimos estabilizar al paciente y que la clínica vaya remitiendo, el siguiente paso es ir reduciendo poco a poco la dosis de GCs hasta la más baja. En todos los pacientes se recomienda un TAC torácico para excluir la posibilidad de timoma. En caso de que se detecte o que no se detecte pero sean el prototipo de paciente comentado previamente, se debe hacer una timectomía (18).

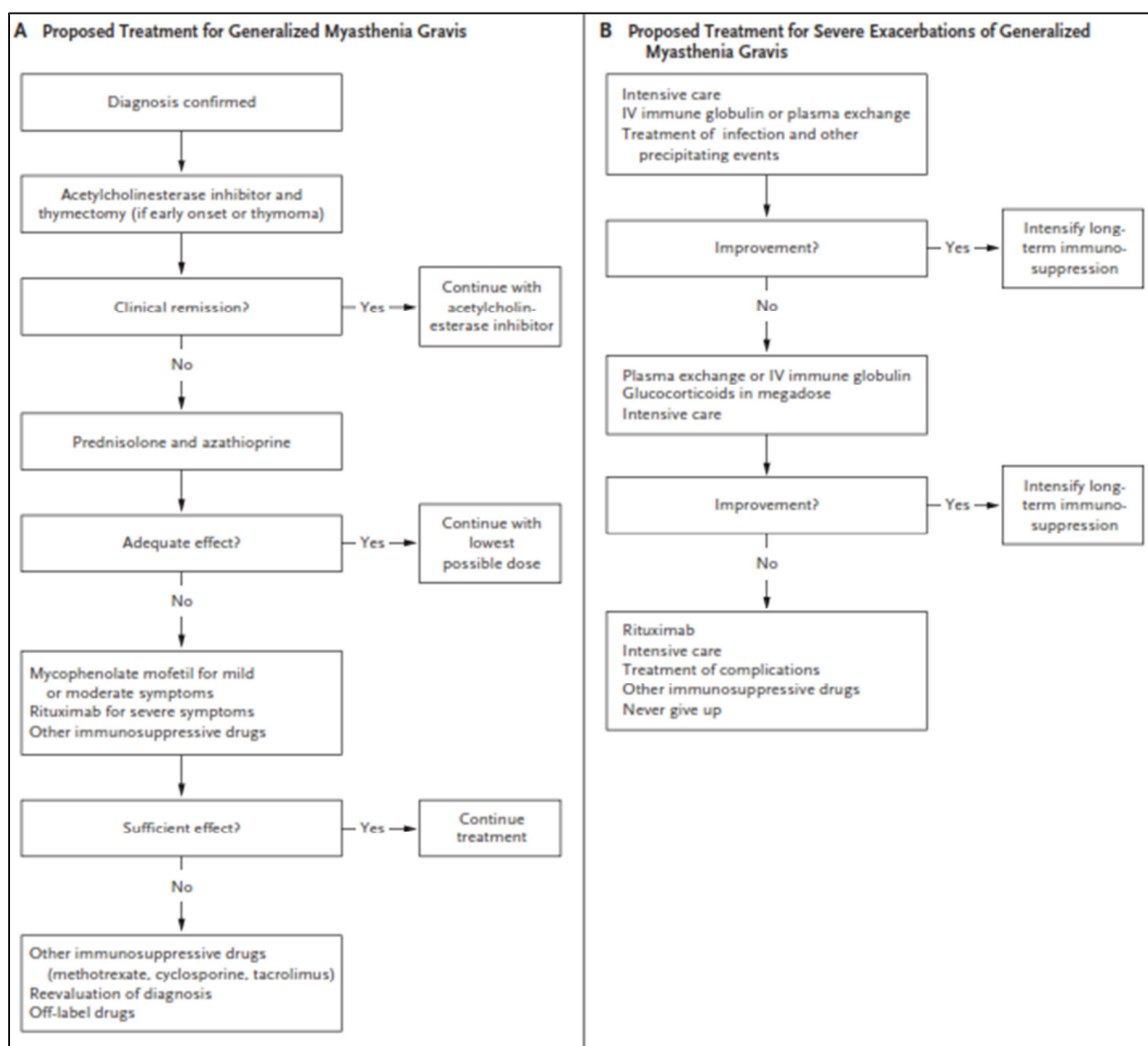


Figura 11. Propuesta de algoritmos de tratamiento para la MG generalizada y las crisis miasténicas. *Konecny I, et al., 2016.*

6.11. ABORDAJE DESDE EL PUNTO DE VISTA DEL INVESTIGADOR

La investigación sobre la miastenia gravis no solo debe ir orientada a posibles tratamientos sino también a entender la patogénesis de la enfermedad, pues existen pacientes definidos como seronegativos porque se desconoce los antígenos que desencadenan la respuesta autoinmune. También, todavía hay muchos aspectos que se desconocen sobre todo de los subgrupos menos frecuentes como la MG anti-MuSK. El subgrupo de MG con anti-AChR es el más común y por tanto el más estudiado a lo largo de la historia de esta enfermedad, quedando como en muchos casos, el resto de subgrupos de menor frecuencia, en un segundo plano. Se está empezando a estudiar ahora, como es el caso de este proyecto, en el que investigadores han hecho un primer intento por entender el mecanismo de la asociación HLA y MuSK-MG.

Lo que se ha investigado es la asociación entre HLA, los anticuerpos IgG anti-MuSK y la producción de citoquinas. Se ha observado que la mayoría de pacientes presenta alelos HLA-DRB1*14 o HLA-DRB1*16 con HLA-DQB1*05 y varía en función del grupo étnico. En este estudio se plantea como hipótesis que las moléculas HLA de clase II son de algún modo, las responsables de la presentación de antígenos a las células T, que van a secretar citoquinas resultando en la proliferación de las células B y la producción de inmunoglobulinas, de manera que, las moléculas HLA supuestamente determinan la producción de citoquinas y éstas la de un tipo autoanticuerpos (24).

En el estudio con pacientes con MuSK-MG se constató como ya se sabía que el anticuerpo más frecuente es del isotipo IgG4, que estos fundamentalmente presentan los alelos DRB1*14 positivo, DRB1*16 negativo y DQB1*05 positivo y que las citoquinas medidas en su suero son, sobre todo, del tipo IL-10 (25).

Además no hace mucho se ha publicado una revisión en la que se ha visto que algunas enfermedades del sistema nervioso y tejido conectivo con anticuerpos IgG4 positivos tienen asociaciones HLA similares a las descritas, esto ha suscitado preguntas interesantes sobre las asociaciones de HLA (26).

Otra de los campos en la investigación sobre la miastenia gravis es el desarrollo de un tratamiento específico que elimine la respuesta inmune de los autoanticuerpos (AChR, MuSK, LRP4) sin afectar a otras reacciones inmunes. En base a esta idea recientemente se ha hecho un estudio muy prometedor con el objetivo de eliminar la respuesta de los anticuerpos anti-AChR. En este estudio se presenta un novedoso péptido denominado Conjugado de doble función formado por un péptido antigénico y un péptido imitador de Fc III (DCAF) con el objetivo de bloquear a los anticuerpos. La molécula se compone de 3 partes funcionales: un péptido antigénico que específicamente reconoce el anticuerpo que va a ser inhibido por lo que se deberían minimizar los efectos adversos sobre otros anticuerpos, un conector y un péptido imitador de Fc III o de Fc III-4C, que tiene una alta afinidad por la región Fc de las IgGs, por lo tanto va a competir con el receptor Fc de la superficie celular o la proteína C1q del complemento. Así, podemos prevenir de la formación del complejo de ataque a membrana (MAC) en la miastenia gravis, lo que sugiere que los DCAFs pueden tener un papel terapéutico muy importante contra autoanticuerpos.

En este estudio se demuestra que los DCAFs son capaces de unirse de forma muy selectiva y simultáneamente a las regiones Fab y Fc de las IgGs. A una IgG solo pueden unírsele como máximo dos DCAFs.

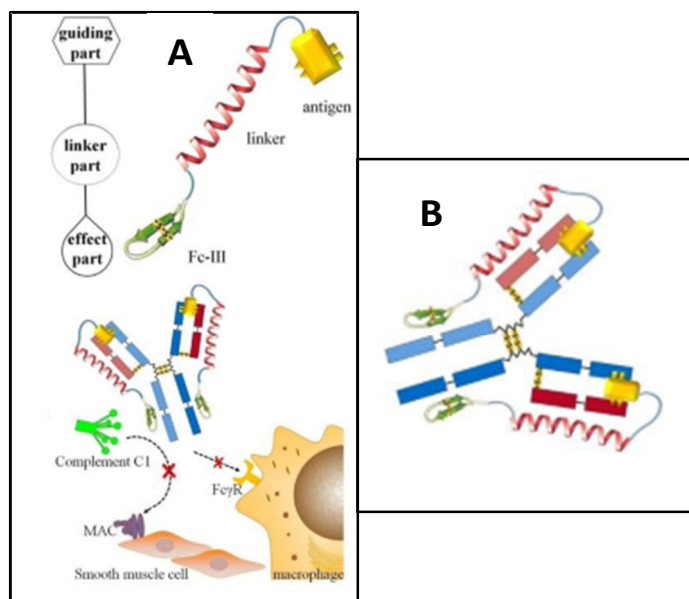


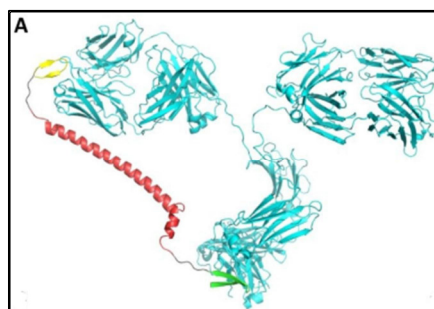
Figura 12. Toda molécula de la terapia dirigida se compone de una parte guía para el reconocimiento específico, una parte conectora y una parte efectora que induce toxicidad por inhibición de procesos fisiológicos. Los DCAFs son capaces de bloquear los anticuerpos en su región Fc para inhibir su unión al receptor Fc (FcγR) o el reclutamiento del componente C1 del complemento (A). Dos moléculas DCAFs unidas a un anticuerpo (B).

Lin Zhang, et al., 2016.

La síntesis de los DCAFs se lleva a cabo por una técnica semisintética. Se trata de una modificación de la ligadura química (NCL). Como conector se utiliza un fragmento hidrofílico de αhélice, pues se observó que tenía algunas ventajas como el aumento de la biocompatibilidad en comparación con los conectores químicos tradicionales.

Figura 13. Representación estructural de DCAF1 unida a IgG. La parte antigénica (amarilla) y la parte Fc III (verde) de la molécula DCAF1 están unidas a la región Fab y Fc de la IgG, respectivamente.

Lin Zhang, et al., 2016.



En este experimento se sintetizaron cuatro DCAFs (DCAF1, DCAF2, DCAF3, DCAF4) con diferentes antígenos específicos y péptidos imitadores de Fc-III, con el objetivo de investigar las propiedades químicas de la unión del DCAF a la IgG.

La síntesis de DCAF4 se obtuvo por la conjugación de Fc III-4C y pep4, un péptido antigénico 39-mer selectivo para inhibir Ab4 (anticuerpo comercial mAb35 que bloquea el AchR e induce miastenia gravis) (27,28).

El diseño de DCAF4 fue con el objetivo de inhibir al anticuerpo mAb35 (Ab4) responsable del bloqueo de los AchR. Este experimento se ha llevado a cabo en ratas a las que se indujo un miastenia gravis autoinmune experimental (EAMG) por la inyección intraperitoneal de Ab4. Para demostrar si DCAF4 era capaz de bloquear mAb35 en el modelo de rata, éstas fueron tratadas con PBS (grupos control), con mAb35 (grupo EAMG), mAb35 seguido de pep4 (grupo tratado con el antígeno) y mAb35 seguido de DCAF4 (grupo tratado con DCAF). Tras 48 horas de tratamiento se observó que tanto el grupo tratado con antígeno como con DCAF, siendo este último el de mayor mejoría, mostraron una reducción de los síntomas y una mejoría de la fuerza, comparados con el grupo EAMG.

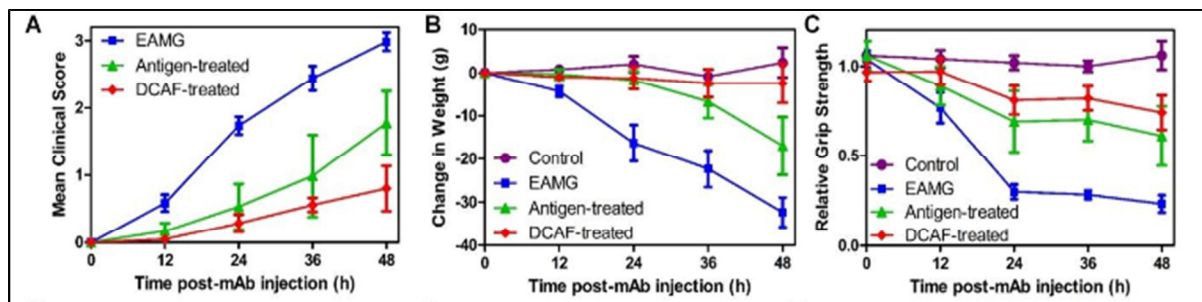


Figura 14. Aplicación de DCAF4 en el modelo de rata EAMG.

Lin Zhang, et al., 2016.

Si pep4 y DCAF4 inhiben Ab4 para aliviar los síntomas esperaríamos encontrar una mayor cantidad de AchRs en la placa motora. Además, si encontrásemos cambios en los niveles de C1q, nos llevaría a pensar que ese aumento de los AchRs es debido al bloqueo de la cascada del complemento; y efectivamente se observó que los niveles de C1q eran un 25% menores en el grupo tratado con DCAF4 en comparación con el tratado con antígeno. Indicando que DCAF causaba una significativa inhibición de la cascada del complemento.

En este estudio los investigadores también llevaron a cabo inmunohistofluorescencia para estudiar el MAC en el tejido muscular de las ratas. Como era de esperar, los niveles de MAC fueron menores en el grupo con DCAF4.

Estos investigadores han diseñado y desarrollado moléculas de DCAF que efectivamente bloquean los anticuerpos contra los AchR en la miastenia gravis en modelos de rata, luego parece un hallazgo prometedor y que a largo plazo tras mucho trabajo, es posible que se consiga aplicar en humanos (29).

Otra alternativa de tratamiento que se está investigando en estos momentos es el posible uso de inhibidores naturales de la AchE procedentes de organismos marinos, pues hasta ahora los AchEI que se emplean en la clínica son de origen terrestre como la galantamina o fisostigmina que ha derivado en inhibidores ampliamente utilizados en la clínica como rivastigmina, neostigmina y piridostigmina.

Entre los inhibidores de la AchE de origen marino que se están estudiando los hay procedentes de bacterias marinas sobre todo *Streptomyces* genus, algas, moluscos y equinodermos entre otros. Existe un amplio número de inhibidores de la AchE de origen marino con actividad prometedora, y el que no se empleen en la clínica no es sinónimo de una falta de eficacia por su parte, sino que no se han investigado lo suficiente e incluso puede que tengan actividad inhibitoria más potente que los actualmente aprobados.

El mundo de los océanos y mares son ambientes formidables para la investigación debido a su enorme biodiversidad (30).

Otro campo de la investigación interesante podría ser el descubrir como inducir tolerancia a los antígenos para no desarrollar anticuerpos contra ellos.

Estudios controlados y prospectivos deberían ser apoyados y potenciados, pues la MG es una enfermedad reversible que con las opciones de tratamiento adecuadas puede suponer una gran diferencia para el paciente.

Los pilares para el tratamiento de la MG siguen siendo los establecidos hace 40 años (piridostigmina, GCs, azatioprina y timentomía), pero la introducción de nuevos

fármacos como el rituximab parece prometedor, aunque todavía hay que trabajar mucho para un tratamiento inmuno específico.

A parte de la paraneoplasia asociada con timoma, las causas de la MG son aún desconocidas, luego una de nuestros objetivos para el futuro debería ser identificarlas para poder prevenirlas y así evitar también casos como el de algunos pacientes a los que la vacuna contra el VPH nonavalente o contra el VHB les desencadenó una MG anti-AchR y el mecanismo patogénico es aún desconocido (31,32).

A pesar de estos avances, todavía queda mucho por descubrir como, qué desencadena la respuesta inmune en esta enfermedad o la relación de ella con el timo, entre otras cosas.

7. BIBLIOGRAFÍA

1. Hurlé JAG-PJM. Neuroanatomía humana. 1º. Panamericana, editor. Madrid; 2014.
2. Standard N. Nervous system : part 2. 2015;(2014):45–9.
3. Bash E. Impulso. Rev Actual Clínica. 2015;27:1301–6.
4. Farley A, McLafferty E, Johnstone C, Hendry C. Nervous system: part 3. Nurs Stand [Internet]. 2014;28(33):46–50.
5. Kayser MS, Dalva MB. Synaptogenesis. Textb Neural Repair Rehabil. 2014;24(22):317–28.
6. Ripoll DR. Neurociencia cognitiva. Panamerica, editor. Madrid; 2013.
7. Liew WKM. Neuromuscular junction disorders [Internet]. 1st ed. Vol. 133, Pediatric Electromyography: Concepts and Clinical Applications. Elsevier B.V.; 2017. 311-325 p.
8. Querol L, Illa I. Myasthenia gravis and the neuromuscular junction. Curr Opin Neurol. 2013;26(5):459–65.
9. Koneczny I, Martinez PM, De Baets M. Myasthenia Gravis. Encycl Immunobiol. 2016;5:168–79.
10. Jayam Trouth A, Dabi A, Solieman N, Kurukumbi M, Kalyanam J. Myasthenia gravis: a review. Autoimmune Dis [Internet]. 2012 [cited 2019 Mar 18];2012:874680.
11. Castro-Suarez S, Caparó-Zamalloa C, Meza-Vega M. Actualización en Miastenia gravis: An Update TT - Myasthenia gravis. Rev Neuropsiquiatr [Internet]. 2017;80(4):247–60.
12. Ha JC, Richman DP. Myasthenia gravis and related disorders: Pathology and molecular pathogenesis. Biochim Biophys Acta - Mol Basis Dis [Internet]. 2015;1852(4):651–7.
13. Orrell RW. Atlas of neuromuscular diseases. Vol. 76, Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry. 2005. 1312-1312 p.
14. Roper J, Fleming ME, Long B, Koyfman A. Myasthenia Gravis and Crisis: Evaluation and Management in the Emergency Department. J Emerg Med [Internet]. 2017;53(6):843–53.
15. Liang CL, Han S. Neuromuscular junction disorders. PM R [Internet]. 2013 May [cited 2019 Mar 18];5(5 Suppl):S81-8.

16. Gilhus NE, Verschuuren JJ. Myasthenia gravis: Subgroup classification and therapeutic strategies. *Lancet Neurol* [Internet]. 2015;14(10):1023–36.
17. Sieb JP. Myasthenia gravis: An update for the clinician. *Clin Exp Immunol*. 2014;175(3):408–18.
18. Lee JJ, Jander S. Myasthenia gravis: recent advances in immunopathology and therapy. *Expert Rev Neurother* [Internet]. 2017;17(3):287–99.
19. Kissel JT, Levy RJ, Mendell JR, Griggs RC. Azathioprine toxicity in neuromuscular disease. *Neurology* [Internet]. 1986 Jan [cited 2019 Apr 12];36(1):35–9.
20. Drachman DB, Jones RJ, Brodsky RA. Treatment of refractory myasthenia: ?Rebooting? with high-dose cyclophosphamide. *Ann Neurol* [Internet]. 2003 Jan [cited 2019 Apr 12];53(1):29–34.
21. Díaz-Manera J, Martínez-Hernández E, Querol L, Klooster R, Rojas-García R, Suárez-Calvet X, et al. Long-lasting treatment effect of rituximab in MuSK myasthenia. *Neurology* [Internet]. 2012 Jan 17 [cited 2019 Apr 12];78(3):189–93.
22. Gajdos P, Chevret S, Toyka K V. Intravenous immunoglobulin for myasthenia gravis. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2012 Dec 12 [cited 2019 Apr 12];12:CD002277.
23. Wolfe GI, Kaminski HJ, Cutter GR. Randomized Trial of Thymectomy in Myasthenia Gravis. *N Engl J Med* [Internet]. 2016 Nov 17 [cited 2019 Apr 12];375(20):2005–7.
24. Mangalam AK, Taneja V, David CS. HLA class II molecules influence susceptibility versus protection in inflammatory diseases by determining the cytokine profile. *J Immunol* [Internet]. 2013 Jan 15 [cited 2019 Apr 24];190(2):513–8.
25. Çebi M, Durmuş H, Yılmaz V, Yentür SP, Aysal F, Oflazer P, et al. Relation of *HLA - DRB1* to IgG4 autoantibody and cytokine production in muscle-specific tyrosine kinase myasthenia gravis (MuSK-MG). *Clin Exp Immunol* [Internet]. 2019;cei.13302.
26. Huijbers MG, Querol LA, Niks EH, Plomp JJ, van der Maarel SM, Graus F, Dalmau J, Illa I VJ. The expanding field of IgG4-mediated neurological autoimmune disorders. *Eur J Neurol*. 2015;22:1151-61.
27. Tzartos S, Hochschwender S, Vasquez P, Lindstrom J. Passive transfer of experimental autoimmune myasthenia gravis by monoclonal antibodies to the main immunogenic region of the acetylcholine receptor. *J Neuroimmunol* [Internet]. 1987 Jun [cited 2019 Apr 24];15(2):185–94.
28. Beroukhi R, Unwin N. Three-dimensional location of the main immunogenic region of the acetylcholine receptor. *Neuron* [Internet]. 1995 Aug [cited 2019 Apr 24];15(2):323–31.
29. Gladstone JH. Chemical Science. *Sci Am*. 2015;16(408supp):6511–2.
30. Moodie LWK, Sepčić K, Turk T, Frangež R, Svenson J. Natural cholinesterase inhibitors from marine organisms. *Nat Prod Rep* [Internet]. 2019.
31. Chung JY, Lee SJ, Shin BS, Kang HG. Myasthenia gravis following human papillomavirus vaccination: A case report. *BMC Neurol*. 2018;18(1):1–4.
32. Stübgen J-P. Neuromuscular disorders associated with Hepatitis B vaccination. *J Neurol Sci* [Internet]. 2010 May 15 [cited 2019 Apr 24];292(1–2):1–4.